Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bonn.
Direktor: Professor Dr. U. Ebbecke.

Über die Bedeutung der Phosphoglycerinsäure für die Glykolyse in der Leber.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 16. November 1937

von

Friedrich Wilhelm Zens
aus Zülpich (Rhld.)

Druck von H. Trapp, Bonn, Stiftsgasse 11 / 1938.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Deuticke.

Korreferent: Prof. Dr. Ebbecke.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die überragende Stellung der Leber im Kohlenhydratstoffwechsel ist schon seit langem erkannt und durch viele Untersuchungen am Leberbrei, an Leberschnitten und am isoliert durchströmten Organ sichergestellt worden. Aber unsere Kenntnisse über die einzelnen Phasen der Glykolyse in der Leber sind wegen der Fülle der in der Leber sich gleichzeitig abspielenden Stoffwechselvorgänge weitaus geringer als die über den Kohlenhydratabbau in der Muskulatur.

Für den Muskel haben in jüngster Zeit G. Embden[1]) und O. Meyerhof[2]) mit ihren Mitarbeitern zumindest *einen* Abbauweg des Kohlenhydrats sichergestellt: nach Veresterung des Kohlenhydrates mit Phosphorsäure entstehen über Hexosediphosphat zwei Mol Triosephosphat, die durch eine Art von Cannizzaroscher Reaktion in 1 Mol Phosphoglycerinsäure und 1 Mol Glycerinphosphorsäure übergehen. Die erstere wird nach Umesterung und intermediärer Bildung von Phosphobrenztraubensäure in Phosphorsäure und Brenztraubensäure gespalten, die Brenztraubensäure anschließend zu rechtsdrehender Milchsäure hydriert. Dabei fungiert im Initialstadium der Glykolyse die Glycerinphosphorsäure als Wasserstoffdonator und wird selbst dabei zu Triosephosphorsäure oxydiert und somit in den weiteren Abbau einbezogen, während im stationären Zustand der Glykolyse die primär bei der Hexosediphosphatspaltung entstandene Triosephosphorsäure direkt als Donator dient. Daß dieser durch Isolierung der Intermediärprodukte gesicherte und durch Zusatzversuche erhärtete Abbauweg aber nicht der einzige im Muskel und bestimmt nicht der einzige im Gesamtorganismus ist, wurde bereits von G. Embden und H. J. Deuticke[1]) betont, und auch H. Jost[3]) erörtert im Zusammenhang mit seinen Feststellungen, daß in der Niere unter anaeroben Bedingungen aus den für die Muskelglykolyse bedeutungsvollen Intermediärprodukten rechtsdrehende Milchsäure entstehen kann, die Möglichkeit eines Zuckerabbaus über Methylglyoxal zu Brenztraubensäure, wobei letztere vielleicht ohne Milchsäurebildung direkt zu

den Endprodukten CO_2 und H_2O abgebaut werden kann, wie das E. Toenniessen[4]) für die Glykolyse im Tumorgewebe und in Gehirnsubstanz annimmt.

Für die Leber hatte früher G. Embden angenommen, daß die Triose Glycerinaldehyd als Intermediärprodukt beim Kohlenhydratabbau auftritt und zwar auf Grund der Feststellung,[5]) daß nach Zusatz von synthetischem d,l-Glycerinaldehyd zum Durchströmungsblut der isolierten Leber ein Gemisch von rechts- und linksdrehender Milchsäure nachweisbar wird. Aber obgleich die gleiche Triose in der diabetischen Leber zu Hexose und zwar zu der nach der sterischen Konfiguration des d,l-Glycerinaldehyds zu erwartenden d-Sorbose synthetisiert wird,[6]) zeigten spätere Versuche von G. Embden und E. Metz,[7]) daß die Triose Glycerinaldehyd nicht als normales Intermediärprodukt der tierischen Glykolyse anzusehen ist. Für die neueren, oben erörterten Anschauungen über den Kohlenhydratabbau im tierischen Organismus war aber eine ebenfalls lange zurückliegende Feststellung von G. Embden[8]) von großer Bedeutung, nämlich, daß Brenztraubensäure in der isoliert durchströmten Leber in rechtsdrehende Milchsäure übergeht, ein Befund, der später von anderen Autoren[9]) bestätigt wurde. Hier war eine Phase bei der Milchsäurebildung, nämlich die Hydrierung von Brenztraubensäure zu rechtsdrehender Milchsäure, Leber und Muskulatur gemeinsam, und es fragte sich, ob auch andere Phasen des für den Muskel aufgezeigten Weges der Glykolyse von der Leber durchgeführt werden können, d.h. ob die Leber ebenso wie der Muskel die phosphorylierten 6- und 3-Kohlenstoffverbindungen unter bestimmten Bedingungen zu bilden und anschließend unter Dephosphorylierung bis zur Milchsäure umzuwandeln vermag. Dieses Problem habe ich auf Veranlassung von Herrn Professor Deuticke einer experimentellen Prüfung unterzogen; ich war mir dabei von vornherein klar, daß die Leber ein Organ ist, das nach Entfernung aus dem Gesamtorganismus und unter anaeroben Bedingungen viel schneller als die Muskulatur, besonders als die Kaltblütermuskulatur, abstirbt, sodaß ich mit der Deutung meiner Versuchsergebnisse sehr zurückhaltend sein mußte.

Methodik.

Zu meinen Versuchen wurden stets Kaninchenlebern verwandt teils von normalen Tieren, teils von Adrenalin-vorbehandelten Hungertieren. Die Tiere wurden durch Nackenschlag und Entbluten aus den Karotiden getötet, die Leber so rasch wie möglich entnommen und nach Beseitigung der Gallenblase durch eine eisgekühlte Fleischhackmaschine getrieben. Der in einer eisgekühlten Porzellanschale gründlich durchmischte Leberbrei wurde auf einer Handwage zu den gewünschten Portionen abgewogen, mit Unterstützung von ein bis zwei Assistenten gleichzeitig in vorbeschickte Kölbchen eingefüllt und bei bestimmter Temperatur 90 Min. unter häufigem Umschütteln exponiert, um eine gute Durchmischung von Expositionsflüssigkeit und Leberbrei zu erzielen. Im Durchschnitt waren 30 Min. nach der Tötung der Tiere sämtliche Ansätze beschickt.

Die mit Gummistopfen versehenen 100 ccm fassenden Erlenmeyerkölbchen enthielten bereits die für die Suspension des Leberbreies vorgesehenen, mit Natriumbikarbonat gepufferten Lösungen. Das Verhältnis von Expositionsflüssigkeit zu Leberbrei war meistens 4 zu 1 bei einer Endkonzentration an Natriumbikarbonat von 1,2%. Nur in einigen unserer Versuche wurde ein Teil Leberbrei in 2 Teile Expositionsflüssigkeit gebracht bei einer Na-bic. Endkonzentration von 2% (Angaben s. bei den betreffenden Versuchen).

Als Zusätze wurden verwandt: 1. *Glykogen* aus Hundeleber; jeder Ansatz enthielt auf 1 g Leberbrei 10 mg Glykogen. 2. *Hexosediphosphorsaures Natrium* aus Candiolin, das über das Bleisalz gereinigt, dessen Gehalt an org. und anorg. Phosphorsäure bestimmt war und von dem 10 mg org. Phosphorsäure auf 1 g Leberbrei den betreffenden Ansätzen zugesetzt wurde. 3. *Phosphorglycerinsaures Natrium:* das aus Kaninchenmuskulatur nach Embden, Deuticke und Kraft[1]) dargestellte Ba-Salz wurde mit N/1 Schwefelsäure solange verrieben, bis sämtliches Barium entfernt und keine Schwefelsäure im Überschuß mehr vorhanden war. Nach Abtrennen des Bariumsulfatniederschlages und Neu-

tralisation mit Natronlauge gegen Lakmus wurde das Filtrat auf org. und anorg. Phosphat analysiert. Jeder Ansatz erhielt 10 mg org. Phosphorsäure pro g Leberbrei. 4. *Glycerinphosphorsaures Natrium:* Glycerinphosphorsäure „Merck" wurde mit Natronlauge gegen Lakmus neutralisiert und auf org. und anorg. Phosphorsäure analysiert. Auch hier wurden je 10 mg org. H_3PO_4 auf 1 g Leberbrei den betreffenden Ansätzen zugesetzt. 5. *Brenztraubensaures Natrium* aus „Brenztraubensäure Schering-Kahlbaum", die für jeden Versuch frisch destilliert und deren Gehalt titrimetrisch bestimmt war. Jeder Ansatz erhielt 10 mg Brenztraubensäure auf 1 g Leberbrei.

In einigen Versuchsreihen wurde Leberbrei zuerst in einer mit Na-bic. gepufferten Lösung von Na-Fluorid oder Cyankali 30 Min. bei 20° vergiftet und erst nach dieser Vorperiode mit den Intermediärprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels versetzt, und zwar so, daß die sämtlichen Ansätze auch während der sich anschließenden Hauptexposition von 90 Min. bei der gewünschten Temperatur das gleiche Volumen enthielten.

Nach der Exposition wurde nach Schenck mit 15%iger HCl und 6%igem $HgCl_2$ gefällt. Um ein klares Schenckfiltrat nach der Entquecksilberung zu erhalten, mußten wir wegen des häufig großen Glykogengehaltes auf 1 g Leberbrei bis zu 0,75 g Sublimat zusetzen. Die Ansätze blieben dann über Nacht im Eisschrank; am nächsten Tage wurde filtriert, mit Schwefelwasserstoff entquecksilbert, entlüftet und in aliquoten Teilen die anorg. Phosphorsäure, Milchsäure und Brenztraubensäure bestimmt. Bei den Zusatzversuchen mit Hexosediphosphat wurden außerdem noch Hydrolysenkurven nach den Angaben von K. Lohmann[10]) aufgenommen.

Die *anorg. Phosphorsäure* wurde nach G. Embden[11]) gravimetrisch bestimmt; in dieser Fraktion sind demnach etwaige bei der sauren Reaktion der Schenckfällung leicht spaltbare org. Phosphorsäureverbindungen mit enthalten. Die *Milchsäure*bestimmung erfolgte nach E. Lehnartz[12]) und zwar stets in Doppelbestimmungen. Die *Brenztraubensäure* wurde in der von G. Embden und H. J. Deuticke[1]) beschriebenen Weise in je 30 ccm Schenckfiltrat als Phenylhydrazon bestimmt. Da diese Methode für geringe Brenztraubensäuremengen recht ungenau

ist, wir aber bei der großen Verdünnung unserer Filtrate nur eine niedrige Brenztraubensäurekonzentration erwarten konnten, haben wir in unseren späteren Versuchen die Brenztraubensäure nach E. M. Case[13]) bestimmt. In Kontrollversuchen, in denen 40 mg Brenztraubensäure zum Schenckfiltrat zugesetzt worden waren, fanden wir 95% der zugesetzten Menge wieder. Die Schenckfällung störte also die Bestimmung nicht, wir brauchten nicht auf eine Eiweißfällung mit Trichloressigsäure überzugehen, nur ist dringend erforderlich, bei der ersten Einengung des Acetessigester-Extraktes genügend Calciumkarbonat zuzusetzen. Eine etwaige Störung der Versuchsergebnisse durch Glukuronsäure, die nach der Methode von Case mitbestimmt wird, wurde durch Kontrollbestimmungen an frischem und ohne Zusatz exponiertem Leberbrei (s. u.) ausgeglichen.

In den nachstehenden Tabellen sind zuerst stets die Mengen anorg. Phosphorsäure und Milchsäure angeführt, welche der Leberbrei zu Versuchsbeginn enthielt. Um diese zu ermitteln wurde die gleiche Menge Leberbrei wie in den Hauptansätzen zu Versuchsbeginn in 15%ige HCl gebracht, mit Sublimat versetzt und mit Wasser auf das gleiche Volumen wie in den Hauptansätzen aufgefüllt. Um andererseits die im Leberbrei ohne jeden Zusatz während der Exposition erfolgende Zunahme der anorg. Phosphorsäure, der Milchsäure und der Brenztraubensäure festzustellen wurde Leberbrei unter den gleichen Bedingungen wie in den Hauptansätzen nur in Na-bic.-Lösung exponiert und nach der Exposition in gleicher Weise nach Schenck gefällt. Von den in den Hauptansätzen ermittelten Werten müssen diese in den Kontrollansätzen gefundenen abgezogen werden. In den Vergiftungsversuchen wurde in einem weiteren Ansatz beobachtet, was während der Vorexposition am Leberbrei geschah.

Es ist selbstverständlich, daß man aus der Vermehrung der anorg. Phosphorsäure allein nicht exakt auf einen Abbau der zugesetzten org. Phosphorsäureverbindungen schließen darf, da die Leber reich an anderen org., nicht zur Klasse der Kohlenhydrate gehörenden, Phosphatfraktionen ist und es durch den Zusatz der Intermediärprodukte zu einer Beeinflussung des Stoffwechsels der lebereigenen Phosphorsäureverbindungen kommen kann. Aber ich glaube, die nachstehend mitgeteilten Ergebnisse

lassen im Zusammenhang mit dem beobachteten Verhalten der Milchsäure und Brenztraubensäure doch schon gewisse Rückschlüsse über die Stellung der phosphorylierten 6- und 3 C-Atomverbindungen bei der Glykolyse in der Leber zu.

Versuchsergebnisse.

Zunächst wurde das Verhalten von Leberbrei gegenüber den beiden 3 Kohlenstoff-Phosphorsäureverbindungen Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure untersucht.

Versuch I.
(Protokoll Nr. 1. 12. 3. 35.)
Verhalten von Leberbrei
gegenüber Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure.
Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.
Jeder Ansatz enthält 25 g Leberbrei in 50 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 2%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphpglycerinsaurem Na, enthaltend 250 mg org. u. 1,6 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 214,4 mg org. u. 3,5 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na, wie in B_2 u. B_3
Anorg. H_3PO_4	23,8	80,1	264,6	120,0	278,6
Milchsäure	35,9	72,1	224,0	77,5	195,0

Aus *Versuch I* ist ersichtlich, daß Zusatz von Phosphoglycerinsäure (B_2) die anorg. H_3PO_4 unter Berücksichtigung der mit der Phosphoglycerinsäure zugesetzten 1,6 mg anorg. H_3PO_4 gegenüber der Kontrolle um 183 mg ansteigen läßt, d. h. falls die anorg. H_3PO_4 ausschließlich aus Phosphoglycerinsäure stammt, sind 73 % der zugesetzten Substanz gespalten. Gleichzeitig war

die Milchsäurebildung sehr stark, die Zunahme gegenüber der Kontrolle betrug 152 mg. Entstammt diese Milchsäure ausschließlich der Phosphoglycerinsäure, so sind etwa 90 % der nach der Phosphorsäureabspaltung möglichen Milchsäuremenge gebildet worden. Brenztraubensäure war dagegen mittels Phenylhydrazin überhaupt nicht nachweisbar.

Bei Zusatz von Glycerinphosphorsäure (B_3) stieg die anorg. H_3PO_4 gegenüber der Kontrolle um 36,4 mg, d. h. 17 % der zugesetzten Substanz sind dephosphoryliert worden, die Milchsäure war um 5,4 mg vermehrt.

Bei gleichzeitigem Zusatz von Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphosäure (B_4) blieben sowohl die H_3PO_4-Abspaltung mit einem Defizit von 26 mg H_3PO_4, wie die Milchsäurebildung mit einem Defizit von 34 mg Milchsäure hinter der Summe der in den Einzelansätzen beobachteten Vermehrung (B_2+B_3) deutlich zurück. Außerdem ist mehr Phosphorsäure, nämlich 65 mg, ohne Milchsäure-Aequivalent geblieben als in der Summe der Einzelansätze, in denen 48 mg H_3PO_4 kein Milchsäure-Aequivalent haben. Brenztraubensäure war auch hier nicht nachweisbar.

Nach diesem Ergebnis vermag also die Leber ebenso wie Muskulatur Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure anzugreifen, aber sie zeigt im einzelnen dabei ein etwas anderes Verhalten als die Muskulatur. Muskulatur führte in den sehr ähnlich angestellten Versuchen von G. Embden und H. J. Deuticke[1]) zugesetzte Phosphoglycerinsäure quantitativ in H_3PO_4 und *Brenztraubensäure* über und bildete erst bei Zusatz eines geeigneten Wasserstoffdonators Milchsäure. Die Leber dephosphoryliert dagegen unvollständiger, bildet überhaupt keine mit Phenylhydrazin erfaßbare Menge Brenztraubensäure sondern in großem Umfange auch ohne speziellen Donatorzusatz *Milchsäure.* Gegenüber Glycerinphosphorsäure verhalten sich Leber und Muskel sehr ähnlich, aber bei gleichzeitigem Zusatz beider Substanzen wieder verschieden: die Muskulatur bildet dann mehr anorg. H_3PO_4 als in beiden Einzelansätzen zusammen unter gleichzeitiger Abnahme der Brenztraubensäure- und Zunahme der Milchsäuremenge; im Leberbrei sind dagegen die H_3PO_4-Vermehrung und auch die Milchsäurebildung gegenüber der Summe

der in den Einzelansätzen gefundenen gehemmt, und die Brenztraubensäure fehlt gänzlich.

Dieses in weiteren Versuchen einwandfrei bestätigte, unterschiedliche Verhalten von Leber und Muskel beruht nicht darauf, daß hier Normaltiere, in den Versuchen von Embden und Deuticke aber adrenalinvorbehandete Hungertiere Verwendung fanden. Auch wenn wir die Lebern adrenalinvorbehandelter Hungetiere*) verwandten, blieben die Unterschiede zwischen Leber und Muskulatur bestehen.

Versuch 2.
(Protokoll Nr. 6. 9. 7. 35.)
Verhalten von Leberbrei
gegenüber Phosphoglycerinsäuse und Glycerinphosphorsäure.
Adrenalin-Hungerkaninchen.
Jeder Ansatz enthält 15 g Leberbrei in 40 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40 $_0$.

Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 2 %iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_1 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 150 mg org. u. 0,3 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 150 mg org. u. 3,9 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na, wie in B_2 und B_3	B_5 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, wie in B_2; während der Exposition Sauerstoffdurchleitung
Anorg. H_3PO_4	15,0	49,9	111,0	76,8	140,5	110,7
Milchsäure	10,0	17,9	43,6	16,7	36,3	38,0

Im *Versuch 2* z. B., der im übrigen genau wie Versuch 1 angestellt wurde, ließ sich ebenfalls keine Brenztraubensäure als Phenylhydrazon nachweisen; allerdings wurde hier die Phosphor-

*) Anmerkung: Die Tiere hungerten 4—5 Tage und erhielten an den letzten 3 Tagen vor dem Versuch, d. h. nicht am Versuchstag selbst, 0,8 mg Adrenalin pro Kg Körpergewicht subkutan injiziert; dadurch war der Glykogengehalt der Leber von im Durchschnitt 5—6 % bei unseren Normaltieren auf 1—2 % abgesunken.

glycerinsäure (B_2) mit 40 % des theoretisch Möglichen ungleich schlechter dephosphoryliert als in Versuch 1. Die Milchsäure war auch hier ohne speziellen Donatorzusatz angestiegen, jedoch bildeten sich nur 46 % der bei der H_3PO_4-Vermehrung möglichen Milchsäuremenge. Aerobiose während der Expositionszeit (B_5) zeigte keinen Einfluß auf die Phosphatabspaltung aus Phosphoglycerinsäure, führte aber zu einer geringfügigen Milchsäureabnahme. Glycerinphosphorsäure (B_3) wurde hier in gleichem Umfange wie im Leberbrei von Normaltieren, zu 15 % gespalten, und bei Zusatz beider Substanzen gleichzeitig (B_4) war trotz einer geringfügigen Vermehrung der anorg. H_3PO_4 um 2,6 mg die Milchsäurebildung gegenüber der Summe der Einzelansätze (B_2+B_3) wieder gehemmt.

Versuch 3 bestätigt das unterschiedliche Verhalten von Leber und Muskulatur. Hier haben Leber und Hinterschenkelmuskulatur von adrenalinvorbehandelten Hungertieren unter gleichen Bedingungen auf die beiden 3-Kohlenstoff-Phosphorverbindungen eingewirkt; die Fällung und Aufarbeitung erfolgte ebenfalls in völlig gleicher Weise. Der Leberbrei spaltete Phosphorglycerinsäure (B_2) zu 42 %, bildete dabei auffallend wenig Milchsäure und keine mit Phenylhydrazin quantitativ erfaßbare Brenztraubensäure (s. Anmerkung bei der Tabelle). Vom Muskelbrei wurde dagegen in Bestätigung der früheren Versuche von G. Embden und H. J. Deuticke[1]) die Phosphoglycerinsäure zu 95 %, d. h. praktisch vollständig gespalten, und 76 % der theoretisch möglichen Brenztraubensäure wurden als Phenylhydrazon isoliert bei geringem Milchsäureanstieg. Während die Glycerinphosphorsäure (B_3) von der Leber in diesen Versuch in sehr geringem, vom Muskel in normalem Umfange dephosphoryliert wurde, spaltete bei gleichzeitigem Phosphoglycerinsäure-Glycerinphosphorsäurezusatz (B_4) die Muskulatur, wie schon früher beobachtet, merklich mehr Phosphorsäure ab als der Summe der Phosphatvermehrung in den Einzelsätzen entsprach und bildete mehr Milchsäure auf Kosten von Brenztraubensäure. Im Leberbrei war in dem entsprechenden B_4-Ansatz aber die Milchsäurebildung wie in den beiden voranstehenden Versuchen gehemmt, obgleich die Phosphorsäurezunahme diesmal die Summe

Versuch 3.

(Protokoll Nr. 19. 30. 7. 36.

Verhalten von Leber- und Muskelbrei gegenüber Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure. Adrenalin-Hungerkaninchen.

Jeder Ansatz enthält 15 g Leber- bzw. Muskelbrei (von der Hinterschenkelmuskulatur) in 30 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 2%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 150 mg org. u. 1,0 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 150 mg org. u. 9,0 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na, wie in B_2 u. B_3
Leberbrei	Anorg. H_3PO_4	19,4	71,4	134,8	80,6	157,9
	Milchsäure	5,3	8,4	22,2	11,1	12,6
	Brenztr. säure	—	—	*	—	—
Muskelbrei	Anorg. H_3PO_4	72,0	88,6	232,7	116,8	281,2
	Milchsäure	34,3	37,5	43,0	46.0	64,0
	Brenztr. säure	—	—	97,4	—	93,7

*) Nach 3 Stunden waren vereinzelte Kristalle erschienen, deren Menge auch bei längerer Aufbewahrung im Eisschrank nicht zunahm und die mikroskopisch dem Brenztraubensäure-Phenylhydrazon sehr ähnlich sahen.

der Phosphatvermehrung in den Einzelansätzen übertraf, an sich also die Bedingungen für einen Milchsäureanstieg gegeben waren. Brenztraubensäure war auch hier im Leberbrei als Phenylhydrazon nicht nachweisbar.

Somit hatten diese Versuche klargestellt, daß auch in der Leber eines adrenalinvorbehandelten Hungertieres Phosphoglycerinsäure angegriffen wird, daß sich aber Leber und quergestreifte Muskulatur dabei tatsächlich etwas verschieden verhalten. Sie zeigten ferner, daß die Adrenalin-Hunger-Vorbehandlung die Leber — im Gegensatz zur Muskulatur — in ihrer Fähigkeit, Phosphoglycerinsäure zu dephosphorylieren und vor allem sie in Milchsäure überzuführen, schwer schädigt, wofür z. T. der niedrigere Glykogengehalt, z. T. wohl noch andere Faktoren verantwortlich zu machen sind. Ob die im Leberbrei der Normaltiere auf Phosphoglycerinsäure-Zusatz so reichlich entstandene Milchsäure zu ihrem vollen Betrage der zugesetzten Phosphoglycerinsäure entstammte, ob Phosphoglycerinsäure nicht die Milchsäure aus Leber-eigenem Glykogen begünstigt, ist auf Grund der bisherigen Versuche noch nicht zu entscheiden.

Für die Frage, inwieweit die Phosphoglycerinsäure auch für die Leber ein wichtiges Intermediärprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels darstellt, war entscheidend, ob die Leber unter den gleichen Bedingungen wie der Muskel auch Phosphoglycerinsäure bilden kann. Nach G. Embden und H. J. Deuticke[1]) entsteht im NaF-vergifteten Muskelbrei aus zugesetztem Glykogen, noch mehr aber aus Hexosediphosphat Phosphoglycerinsäure, die sich durch ihre schwere Säurehydrolysierbarkeit vor dem Hexosediphosphat auszeichnet. Wenn es auch nicht statthaft ist, die von K. Lohmann[10]) für die Muskulatur angegebene Methode, aus Hydrolysenkurven von Muskelfiltraten die Anwesenheit und die Menge bestimmter org. P-Verbindung zu erschließen, auf andere Organe, deren P-Verbindungen noch nicht so weitgehend bekannt sind, zu übertragen, so war immerhin mit dieser Methode die Entscheidung darüber möglich, ob die Leber ebenso wie der Muskel die leicht hydrolysierbare Hexosediphosphorsäure in einen schwer hydrolisierbaren Ester umwandelt.

Das ist, wie *Versuch 4* zeigt, wenn überhaupt, nur in ganz geringem Umfang der Fall. Die Hydrolysenkurve II verläuft nur bei längerer Hydrolyse um ein geringes flacher als Kurve I (Kontrolle), der Steilanstieg im Anfang zeigt, daß die Hexosediphosphorsäure als leicht spaltbarer Ester noch in großen Mengen

Versuch 4.
(Protokoll Nr. 2. 12. 4. 35.)

Verhalten von Phosphorsäure und Milchsäure im Fluroid-vergifteten und mit Hexosediphosphat versetzten Leberbrei. Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Jeder Ansatz enthält 25 g Leberbrei, der in 50 ccm Expositionsflüssigkeit (m/33 Natriumfluorid — 3 % Na-bic.-Lösung) 30 Min. bei 20° vorexponiert wird. Dann erfolgen die Zusätze, anschließend Exposition 90 Min. bei 39—40°.

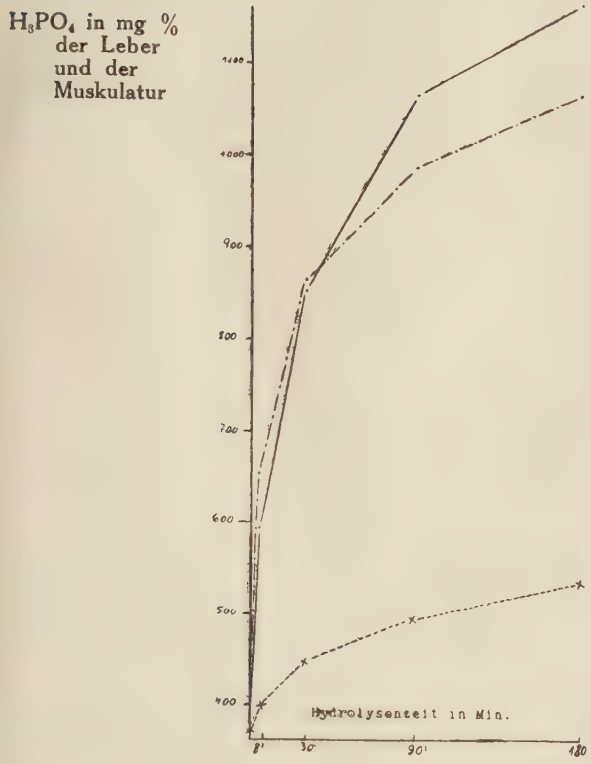
Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A	B_1	B_2	B_3 Kontrolle	B_4
		Nach 30 Min. Exposition in m/33 NaF—3 % Na-bic. bei 20°			
	Zu Versuchsbeginn		Zusatz von 10 ccm H_2O	Zusatz von 10 ccm H_2O	Zusatz von 10 ccm Hexosediphosphat, enthaltend 250 mg org. und 8,9 mg anorg. H_3PO_4
			Exposition 90 Min. bei 39—40°		
				Nach der Schenck-fällung Zusatz von Hexosediphosphat wie in B4	
Anorg. H_3PO_4	24,7	26,9	61,6	87,7	112,8
Milchsäure	27,7	29,2	28,5	28,3	40,0

vorhanden ist, während die *Muskulatur* derselben Tiere, wie der sehr flache Verlauf der Kurve III zeigt, aus dem in gleicher Weise zugesetzten Hexosediphosphat einen schwer hydrolysierbaren Ester gebildet hatte, der auch in diesem Versuch als Phosphoglycerinsäure isoliert und identifiziert wurde. Der Versuch zeigt ferner, daß, wie schon J. S. L. Browne und Rhoda Grant[14]) beobachteten, Fluorid die Milchsäurebildung im Leberbrei hemmt (vgl. B_1 mit B_2 und B_3), daß dagegen aus Hexosediphosphat im Leberbrei noch nach 30 Min. Fluorid-Einwirkung Milchsäure gebildet wird (B_4) und das anorg. Phosphat in den Fluorid-Ansätzen ohne und mit Hexosediphosphat-Zusatz ansteigt.

Trotzdem schränkt Fluorid nicht nur die spontane Milchsäurebildung, sondern auch die aus Hexosediphosphat und Glykogen erfolgende ebenso wie die spontane und nach Hexosedi-

Versuch 4.

Hydrolysenkurve.



Hydrolysenkurve I. (·———·): Ansatz B_3: Leberbrei mit NaF exponiert und **nach** der Schenckfällung mit Hexosediphosphat versetzt (Kontrolle. Ges. lösl. H_3PO_4 in % der Leber 1,87 %.

Hydrolysenkurve II. (—·—·—): Ansatz B_4: Leberbrei mit NaF und Hexosediphosphat exzoniert. Ges. lösl. H_3PO_4 in % der Leber 1,80 %.

Hydrolysenkurve III. (x·····x): Muskelbrei derselben Tiere; wie in B_4 mit NaF und Hexosediphosphat versetzt. Ges. lösl. H_3PO_4 in % der Muskulatur 1,85 %.

Versuch 5.

(Protokoll Nr. 3. 23. 5. 35.)

Verhalten der Phosphorsäure und Milchsäure im Fluorid-vergifteten und unvergifteten Leberbrei nach Glykogen- und Hexosediphosphatzusatz.

Adrenalin-Hungerkaninchen.

Fluorid-vergiftete Reihe: Je 10 g Leberbrei werden in 30 ccm Expositionsflüssigkeit, enthaltend m/16,5 NaF und 3 % Na-bic., 30 Min. bei 20° vorexponiert, dann mit den entprechenden Zusätzen versehen und 90 Min. bei 39—40° exponiert.

Unvergiftete Reihe: Je 10 g Leberbrei werden in 30 ccm Expositionsflüssigkeit, enthaltend 3 % Na-bic., 30 Min. bei 20° vorexponiert, mit den entsprechenden Zusätzen versehen und 90 Min. bei 39—40° exponiert.

Zu Versuchsbeginn sind im ganzen Ansatz enthalten: Anorg. H_3PO_4 10,9 mg; Milchsäure 11,9 mg

	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	B^1	B_2	B_3	B_4
			Nach Vorexposition		
			Zusatz von 6 ccm H_2O	Zusatz von 6 ccm Hexosediphosphat, enthaltend 150 mg org. und 13,7 mg anorg. H_3PO_4	Zusatz von 6 ccm Glykogenlösung, enthaltend 150 mg Glykogen
			Exposition 90 Min. bei 39—40°		
NaF vergiftete Leber	Anorg. H_3PO_4	13,0	27,7	52,2	30,0
	Milchsäure	—	9,1	16,7	12,4
Normale Leber	Anorg. H_3PO_4	17,6	30,9	98,6	35,4
	Milchsäure	12,3	15,8	27,1	25,8

phosphatzusatz einsetzende Phosphatvermehrung im Leberbrei ein, ohne vollkommen zu hemmen, wie *Versuch 5* zeigt, in dem mit m/16,5 Fluorid vergifteter und unvergifteter Leberbrei mit-

einander verglichen wurden. In diesem Verhalten können wir zwar einen gewissen Hinweis darauf sehen, daß das Fluorid wie im Muskel, so auch in der Leber in die Intermediärvorgänge beim Kohlenhydratabbau hemmend eingreift. Aber der Verlauf der Hydrolysenkurven ließ auch in diesem Versuch 5 wie in einigen weiteren, bei anderen Fluorid-Konzentrationen angestellten Versuchen nicht auf die Umwandlung von Hexosediphosphat in einen schwer spaltbaren Ester mit Sicherheit schließen.

Für die Stellung der Phosphorglycerinsäure als mögliches Intermediärprodukt im Kohlenhydratstoffwechsel der Leber sprach bisher also vornehmlich ihre leichte Angreifbarkeit. Aber es ist schon hervorgehoben worden, daß sich Leber und Muskulatur gegenüber Phosphoglycerinsäure zwar nicht prinzipiell, aber im einzelnen verschieden verhalten. Diese Unterschiede bleiben auch bei Variation der Versuchsbedingungen bestehen.

So zeigt z. B. *Versuch 6* den Einfluß steigender Temperatur auf die Phosphorsäure- und Milchsäurebildung. Die Steigerung der Dephosphorylierung bei Temperaturerhöhung war bei der Phosphoglycerinsäure (B_2) zwischen 30 und 40° noch sehr erheblich, bei der Glycerinphosphorsäure (B_3) nur noch geringfügig, und nach Zusatz beider Substanzen gleichzeitig (B_4) war die Phosphatzunahme bei 10 und 20° höher, bei 30 und 40° niedriger als in B_2 und B_3 zusammen, während die Milchsäurebildung bei 20—40° in sämtlichen B_4-Ansätzen wieder deutlich gehemmt war. Brenztraubensäure ließ sich in keinem der Ansätze nachweisen.

Um zu klären, ob die Menge der zugesetzten org. Phosphorsäureverbindungen oder deren Abbauprodukte zu einer übergroßen Belastung oder Schädigung der am Abbau beteiligten Leberfermente führen und dadurch die Unterschiede zwischen Leber und Muskulatur hervorrufen konnte, wurde in einem weiteren Versuch eine Reihe von Ansätzen wie bisher sofort mit der Gesamtmenge Substrat versetzt (Reihe A), eine zweite Reihe (Reihe B) fraktioniert in drei Portionen und zwar so, daß am Schluß den entsprechenden Ansätzen beider Reihen die gleichen Substratmengen im gleichen Volumen beigegeben waren.

Wie man sieht, wird die Phosphoglycerinsäure (B_2) bei einmaligem Zusatz ungleich stärker dephosphoryliert als bei

Versuch 6.

(Protokoll Nr. 16. 22. 6. 36.

Einfluß verschiedener Temperaturen auf den Phosphorsäure- und Milchsäuregehalt des mit Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure versetzten Leberbreis.

Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Jeder Ansatz enthält 4 g Leberbrei in 16 ccm Expositionsflüssigkeit.

Exposition 90 Min. bei den angegebenen Temperaturen.

Zu Versuchsbeginn sind im ganzen Ansatz enthalten: Anorg. H_3PO_4 4,4 mg; Milchsäure 4,1 mg

Temperatur während der Exposition	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	B_1 Nach Exposition in 1,2%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 0,3 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 1,8 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem und glycerinphosphorsaurem Na wie in B_2 u. B_3
10°	Anorg. H_3PO_4	8,1	9,8	8,7	11,6
	Milchsäure	5,8	5,0	3,9	5,5
20°	Anorg. H_3PO_4	7,1	13,9	11,0	19,3
	Milchsäure	4,6	7,0	5,2	6,8
30°	Anorg. H_3PO_4	9,5	23,6	16,6	28,3
	Milchsäure	5,8	9,0	5.9	8,4
40°	Anorg. H_3PO_4	11,9	38,2	20,6	37,8
	Milchsäure	7,0	13,8	7,2	12,8

fraktioniertem Zusatz (66% gegenüber 26% der theoretisch möglichen Menge); dabei ist aber die Milchsäurebildung im Ansatz der B-Reihe absolut zwar geringer, relativ aber größer, da bei Zugrundelegung der Phosphatabspaltung rechnerisch in der B-Reihe der organische Teil des Moleküls zu 53%, in der A-Reihe dagegen nur zu 33% in Milchsäure übergegangen ist. Bei der Glycerinphosphorsäure (B_3) liegen die Verhältnisse bezüglich der Phosphatabspaltung ähnlich wie bei der Phosphoglycerinsäure, nämlich geringere Spaltung bei fraktioniertem Zusatz, die Milch-

Versuch 7.
(Protokoll Nr. 7. 17. 7. 35.)

Einfluß verschiedenartigen Zusatzes von Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure auf die Phosphorsäure- und Milchsäurebildung im Leberbrei. In der *A-Reihe* der Ansätze wurde sofort zu Versuchsbeginn die Gesamtmenge der betreffenden Substanz, in der *B-Reihe* 1 Drittel Substrat sofort, das 2. Drittel nach 30 Min. und das letzte Drittel nach 60 Min. zugesetzt.

Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Jeder Ansatz enthält 10 g Leberbrei in 30 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

Zu Versuchsbeginn sind im ganzen Ansatz enthalten: Anorg. H_3PO_4 13,9 mg; Milchsäure 7,3 mg

	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	B_1 Nach Exposition in 2%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 100 mg org. u. 0,2 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 100 mg org. u. 2,8 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na, wie in B_2 u. B_3
A-Reihe	Anorg. H_3PO_4	31,3	97,0	47,8	81,8
	Milchsäure	12,6	32,6	12,3	21,5
B-Reihe	Anorg. H_3PO_4	—	57,9	40,6	67,3
	Milchsäure	—	25,3	11,5	19,6

säurebildung bleibt in beiden Reihen gegenüber der Kontrolle praktisch unbeeinflußt. Bei gleichzeitigem Zusatz beider Substanzen (B_4) ist in der A-Reihe die Phosphorsäure- und Milchsäurezunahme wieder gegenüber dem Anstieg in den betreffenden Einzelansätzen stark gehemmt; in der B-Reihe ist aber die Phosphatabspaltung gleich der Summe der in den Einzelansätzen festgestellten Phosphatvermehrung und auch die Milchsäurebildung relativ weniger eingeschränkt. Brenztraubensäure-Phenylhydrazon war in keinem Ansatz nachweisbar.

In einem weiteren Versuch schließlich wurde bei konstantem Substratzusatz die Expositionszeit variiert *(Versuch 8)*. Dabei

Versuch 8.

(Protokoll Nr. 20. 15. 9. 36.)

1) Einfluß verschiedener Expositionszeiten auf die Phosphosäure- und Milchsäurebildung in dem mit Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure versetzten Leberbrei.
2) Einwirkung von Leberbrei, der zunächst 45 Min. bei 20° aufbewahrt war, auf die gleichen Substanzen.

Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Jeder Ansatz enthält 4 g Leberbrei in 16 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition bei 39—40°.

Zu Versuchsbeginn sind im ganzen Ansatz enthalten: Anorg. H_3PO_4 5,1 mg; Milchsäure 2,2 mg

Expositionsdauer in Min.	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	B_1 Nach Exposition in 1%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 39,5 mg org. u. 0,4 mg anorg. H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 2,5 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na. wie in B_2 und B_3
15	Anorg. H_3PO_4	8,1	14,5	11,2	18,8
	Milchsäure	2,8	4,8	2,2	4,4
30	Anorg. H_3PO_4	8,7	21,1	12,8	23,0
	Milchsäure	2,6	5,5	3,3	5,0
60	Anorg. H_3PO_4	10,0	26,0	16,5	29,3
	Milchsäure	2,5	4,2	2,3	5,9
90	Anorg. H_3PO_4	11,8	34,4	19,5	32,0
	Milchsäure	3,5	8,3	3,0	6,8
Leberbrei, 45 Min. bei 20°.					
90	Anorg. H_3PO_4	—	31,3	19,0	35,8
	Milchsäure	—	6,9	3,2	7,0

zeigte sich in einem gewissen vorerst noch nicht erklärbaren Gegensatz zum voranstehenden Versuch 7, daß noch nach einer Stunde Exposition die Dephosphorylierung von Phosphoglycerinsäure (B_2) und Glycerinphosphorsäure (B_3) kontinuierlich fort-

schreitet, daß sie aber bei gleichzeitigem Zusatz der beiden Substanzen dann schon merklich nachläßt. Nur nach der kurzen Expositionszeit von 15 Min. wurde die gesamte Phosphatzunahme in $B_2 + B_3$ durch die im Ansatz B_4 festgestellte übertroffen. Die Milchsäurebildung, die in diesem Versuch ungewöhnlich niedrig blieb, ist, bezogen auf die Phosphatabspaltung, bei kurzer Expositionszeit relativ größer, bei Glycerinphosphorsäurezusatz gegenüber den Kontrollansätzen völlig, in den B_4-Ansätzen teilweise gehemmt. Brenztraubensäure-Phenylhydrazon war in keinem Ansatz nachweisbar. Der zweite Teil dieses Versuches 8 schließlich zeigte uns, wiederum in einem gewissen Gegensatz zum Versuch 7, daß ein 45 Min. bei 20^0 in feuchter Kammer aufbewahrter Leberbrei gegenüber dem lebensfrischen Leberbrei in seiner Fähigkeit, die hier untersuchten H_3PO_4-Verbindungen anzugreifen, kaum beeinträchtigt war.

Die drei letzten Versuche bestätigen also im wesentlichen auch unter variierten Versuchsbedingungen das verschiedene Verhalten von Leber und Muskulatur gegenüber Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure, besonders bezüglich des Auftretens von Brenztraubensäure. Aber auch die Phosphorsäure-Abspaltung und die Milchsäurebildung verlaufen in der Leber anders als im Muskel. Besonders auffällig ist die hemmende Wirkung, die bei gleichzeitigem Zusatz von Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure die letztere auf die Phosphorsäure- und Milchsäurebildung ausübt, die am Muskel nie beobachtet wurde (s. Vers. 3 und die Versuche von G. Embden und H. J. Deuticke), und die außer durch α, β-Glycerinphosphorsäure auch durch reine β-Glycerinphosphorsäure hervorgerufen werden konnte. Daß der in diesen Ansätzen gefundene Mindergehalt an anorg. Phosphat auf einer nachträglichen Veresterung bereits abgespaltener Phosphorsäure mit Kohlenhydrat beruht, ist, obgleich dieses Verhalten vorwiegend glykogenreiche Lebern von Normaltieren zeigten, unwahrscheinlich. Auch in den anderen Ansätzen waren die Bedingungen zur Phosphatveresterung gegeben, vor allem aber spricht die gleichzeitige Einschränkung der Milchsäurebildung dagegen.

Ferner zeigen die letzten drei Versuche die verschiedene Empfindlichkeit und Beeinflußbarkeit von Teilphasen des fermen-

Versuch 9.

(Protokoll Nr. 17. 9. 7. 36.)

Verhalten der Phosphorsäure und Milchsäure nach Zusatz von Glykogen, Hexosediphosphat, Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure.

Adrenalin-Hungerkaninchen.

Jeder Ansatz enthält 4 g Leberbrei in 16 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 1,6%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von 40 mg Glykogen	B_3 Desgl. unter Zusatz von hexosediphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 7,2 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u 0,3 mg anorg. H_3PO_4	B_5 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 2,4 mg anorg. H_3PO_4	B_6 Desgl unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem u. glycerinphosphorsaurem Na wie in B_4 u. B_5
Anorg. H_3PO_4	4,9	14,5	14,0	33,8	30,5	22,2	34,6
Milchsäure	2,3	3,8	4,0	5,9	6,8	3,4	5,5

tativen Phosphoglycerinsäure-Umsatzes, nämlich der Phosphorsäure-Abspaltung einerseits, der Milchsäurebildung andererseits. Letztere wird durch Zeit und Temperatur stärker beeinträchtigt, und man muß sich fragen, ob die Ursache hierfür darin gelegen ist, daß Phosphoglycerinsäure in der Leber auf verschiedenen Wegen abgebaut werden kann, von denen nur einer zur Milchsäure führt. Dadurch würde das in den bisherigen Versuchen stets beobachtete Fehlen eines Brenztraubensäure-Äquivalentes verständlich werden, Brenztraubensäure würde im Leberbrei überhaupt nicht oder in der Bilanz nur in sehr geringer, mit Phenylhydracin (und auch Dinitrophenylhydracin) nicht faßbarer Menge entstehen; andererseits konnte das Fehlen eines Brenztraubensäure-Äquivalents dadurch verursacht sein, daß Brenztraubensäure im Leberbrei wie im Muskel aus Phosphoglycerinsäure entstanden war, aber sehr viel rascher in der Leber verschwand, ohne insgesamt zu Milchsäure hydriert zu werden.

Unabhängig von der Frage, ob die Milchsäure ein *obligates* Intermediärprodukt beim vollständigen Kohlenhydratabbau in der Leber ist, ließ sich aber klären, inwieweit bei dem der Leber *möglichen* Umsatz von Kohlenhydrat in Milchsäure die Phosphoglycerinsäure die gleiche Stellung einnimmt wie im Muskel, und und zwar durch Feststellung der Geschwindigkeit, mit der im Leberbrei aus Phosphoglycerinsäure einerseits, ihren Vorstufen Hexosediphosphat und Glykogen andererseits, Milchsäure entsteht. *Versuch 9* zeigt, daß der Leberbrei eines Adrenalin-Hungertieres aus Phosphoglyzerinsäure (B_4) am stärksten, aus Hexosediphosphat (B_3) weniger gut und aus Glykogen (B_2) in diesem Versuch praktisch gar keine Milchsäure bildet*), und daß bei gleichzeitigem Zusatz von Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure (B_6) die Milchsäurezunahme zwar wieder beeinträchtigt ist, aber der im Hexosediphosphatansatz gefundenen etwa gleicht. Die Dephosphorylierung des Hexosediphasphats erfolgte dabei zu 30%, die der Phosphoglycerinsäure zu 40%. Da andererseits Brenztraubensäure von der Leber auch unter unseren Versuchsbedingungen (*Versuch 10*) schon ohne speziellen Donator (B_2), bei gleichzeitigem Glyzerinphosphorsäurezusatz (B_4) um ein geringes stärker zu Milchsäure hydriert wird, *kann die Phosphoglycerinsäure an sich beim Kohlehydratabbau in der Leber die gleiche Stellung wie im Muskel einnehmen, über Brenztraubensäure in Milchsäure übergehen.* Schwierig ist hiermit nur das bisher stets beobachtete Fehlen eines Brenztraubensäure- bezw. Milchsäure-Aequivalentes zu vereinen. Aber Versuch 10 gibt zugleich eine Erklärung hierfür; von der zugesetzten Brenztraubensäure war im Ansatz B_2 nach der Exposition der weitaus überwiegende Anteil weder als Brenztraubensäure noch als Milch-

*) Anmerkung: Daß an sich unter den hier gewählten Versuchsbedingungen die Leber Glykogen in Milchsäure umzusetzen vermag, wurde vorher in einem Versuch festgestellt, in dem 4 g Leberbrei eines normalen Kaninchens bei verschiedenem pH mit 40 mg Glykogen exponiert wurden; die Milchsäurebildung war im Ansatz mit 1,2%iger Na-bic. Lösung bei pH 8,1 mit einer Milchsäurezunahme von 4 mg am stärksten, absolut natürlich nicht sehr groß. In allen unseren Versuchen konnten wir das geringe Milchsäurebildungsvermögen der Leber nach Glykogenzusatz, auf das schon viele Autoren (W. W. Simpson u. J. J. R. Macleod[15], J. S. L. Browne und R. Grant[14], W. Haarmann[16]) hinwiesen, bestätigen, besonders gering war es stets bei den Adrenalin-Hungertieren.

Versuch 10.

(Protokoll Nr. 12. 22. 4. 36.)

Verhalten der Phosphorsäure, Milchsäure und Brenztraubensäure bei Einwirken von Leberbrei auf Brenztraubensäure und Glycerinphosphorsäure.

Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Jeder Ansatz enthält 4 g Leberbrei in 16 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 1,2%iger Na-bic.lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von 40 mg Brenztraubensäure	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 2,0 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl. unter Zusatz von brenztraubensaurem und glycerinphosphorsaurem Na wie in B_2 u. B_3
Anorg. H_3PO_4	4,1	5,0	4,6	6,9	8,5
Milchsäure	3,3	5,5	10,9	4,3	12,5
Brenztraub.-säure	—	—	6,8	—	—

säure nachweisbar, und im Ansatz B_4 war durch gleichzeitigen Glycerinphosphorsäure-Zusatz sogar die gesamte Brenztraubensäure ohne entsprechende Milchsäurebildung verschwunden. Selbst wenn in diesem Versuch die Brenztraubensäure als Phenylhydrazon nur zu 50% erfaßt war, blieb in der Bilanz noch die Hälfte des Zusatzes ungedeckt.

Hiernach bestand die Möglichkeit, daß auch in der Leber die Phosphoglycerinsäure zwar über Brenztraubensäure abgebaut wird, daß aber der größte Teil der Brenztraubensäure so rasch verschwindet ohne in Milchsäure überzugehen, daß in den bisherigen Versuchen vielleicht vorhandene geringe Brenztraubensäuremengen nicht erfaßt waren. Infolgedessen ist in einer Reihe von Versuchen die Brenztraubensäure mit der sehr viel empfindlicheren Methode von Case[13]) bestimmt worden, die allerdings

abgesehen von gelegentlichen methodischen Mißhelligkeiten den Nachteil hat, daß dabei zumindest Lävulin- und Glukuronsäure, in unseren Leberbreiversuchen vielleicht auch noch andere Substanzen als Brenztraubensäure mitbestimmt wurden. Man durfte demnach eher zu hohe als zu niedrige Werte erwarten.

In den unter Verwendung dieser Methode durchgeführten *Versuchen 11 und 12* zeigt sich nun, daß tatsächlich nach Zusatz von Phosphoglycerinsäure (B_2) auch im Leberbrei geringe Mengen von Brenztraubensäure nachweisbar werden. Nach Abzug der in den Kontrollansätzen (B_1) gefundenen Werte, die möglicherweise nicht von Brenztraubensäure allein herrühren, sind im Versuch 11 an Normaltieren bei Dephosphorylierung der zugesetzten Phosphoglycerinsäure zu 74% immerhin 16% der nach der Phosphatabspaltung möglichen Brenztraubensäure und 70% d. h. außerordentlich viel der möglichen Milchsäure gebildet worden. Diese einigermaßen ausgeglichene Bilanz findet sich nicht im Ansatz B_2 von Versuch 12 an Adrenalin-Hungertieren. Hier blieben 78% der abgespaltenen Phosphorsäure ohne Brenztraubensäure- und Milchsäure-Äquivalent, da Brenztraubensäure zwar in etwa gleichem Umfang wie in Versuch 11, Milchsäure dagegen nur zu 19% der möglichen Menge vorhanden war. Gegenüber Glycerinphosphorsäure (B_3) und bei gleichzeitigem Zusatz beider Substanzen (B_4) verhält sich die Leber wieder wie in den voranstehenden Versuchen; die geringe Brenztraubensäurebildung im B_3-Ansatz — im Versuch 11 wurde sie nicht bestimmt — konnte in weiteren Versuchen bestätigt werden, wobei zunächst offen bleiben muß, ob es sich hier wirklich um Brenztraubensäure handelte.

Ferner bestätigen diese Versuche, daß zugesetzte Brenztraubensäure (B_5) in großem Umfang in der Bilanz verschwindet. Im Versuch 11 wurden 42% der zugesetzten Brenztraubensäure als solche und 30% als Milchsäure wiedergefunden, die Milchsäurebildung war hier merklich geringer als im Ansatz B_2, 28% der Brenztraubensäure waren verschwunden, und im Versuch 12 fehlten 26% in der Bilanz, auch wurde hier die Brenztraubensäure wie immer bei Adrenalin-Hungertieren sehr viel weniger gut in Milchsäure umgesetzt. Bei gleichzeitigem Zusatz von Glycerinphosphorsäure (B_6) entsteht in der Brenztraubensäure-

Versuch 11 und 12.

(Protokoll Nr. 22. 5. II. 36.)
(„ „ 24. 30. II. 36.)

Verhalten der Phosphorsäure, Milchsäure und Brenztraubensäure bei Einwirkung von Leberbrei auf Phosphoglycerinsäure, Glycerinphosphorsäure und Brenztraubensäure.

Versuch 11. Normale, nicht vorbehandelte Kaninchen.

Versuch 12. Adrenalin-Hungerkaninchen.

In beiden Versuchen enthält jeder Ansatz 4 g Leberbrei in 16 ccm Expositionsflüssigkeit. Exposition 90 Min. bei 39—40°.

	Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A. Zu Versuchsbeginn	B_1 Nach Exposition in 1,2%iger Na-bic. lösung; kein Zusatz	B_2 Desgl. unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem Na. enthaltend 40 mg org. u. 0,2 mg anorg H_3PO_4	B_3 Desgl. unter Zusatz von glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg org. und 2,8 mg anorg. H_3PO_4	B_4 Desgl unter Zusatz von phosphoglycerinsaurem und glycerinphosphorsaurem Na wie in B_2 u. B_3	B_5 Desgl unter Zusatz von 40 mg Brenztraubensäure	B_6 Desgl. unter Zusatz von brenztraubensaurem u. glycerinphosphorsaurem Na wie in B_5 u. B_3	B_7 Kontrolle. Desgl. ohne Zusatz; nach der Schenckfällung werden 40 mg Brenztraubensäure zugesetzt
Vers. 11.	Anorg H_3PO_4	4,1	12,3	42,0	22,4	45,2	12,3	22,9	12,4
	Milchsäure	4,1	6,9	26,0	8,2	22,0	19,1	19,4	7,5
	Brenztraub.-säure	—	1,8	6,0	—	7.9	18,4	10,7	40,4
Vers. 12.	Anorg.H_3PO_4	4,5	14,2	40,1	23,3	37,5	13,8	23,1	—
	Milchsäure	2,6	3,8	8,4	3,6	7,7	9,1	9,1	—
	Brenztraub.-säure	—	1,5	6,4	3,4	4,8	25,0	15,8	—

Bilanz ein noch größeres Defizit von 47% (Vers. 11) und 49% (Vers. 12), ohne daß der Milchsäuregehalt sich ändert. Dabei blieb die Phosphorsäure in den B_5 und B_6-Ansätzen im Vergleich zu B_1 und B_3 praktisch unverändert, und die Brauchbarkeit der Methode zeigt Ansatz B_7 im Versuch 11, in dem 95% der zugesetzten Brenztraubensäure, nach Abzug des in B_1 festgestellten Wertes, wiedergefunden wurden.

Das entscheidende Ergebnis dieser Versuche ist darin zu sehen, daß im Phosphoglycerinsäure-Ansatz Brenztraubensäure nachgewiesen wurde, allerdings in sehr geringer Menge, aber ausreichend, um wahrscheinlich zu machen, daß Phosphoglycerinsäure in der Leber ebenfalls zu Brenztraubensäure abgebaut werden kann. Daß es sich wirklich um eine Brenztraubensäurebildung hier handelt, wurde in einem Versuch bewiesen, in dem größere Mengen Leberbrei mit einer entsprechend größeren Phosphoglycerinsäuremenge unter den gleichen Bedingungen wie bisher exponiert wurden. Aus dem mit NaOH neutralisierten und im Vakuum eingeengten Schenckfiltrat ließ sich nach Phenylhydrazin-Zusatz eine Roh-Fraktion gewinnen, die stark verunreinigt war, aus der aber durch mehrmaliges Umkristallisieren geringe Mengen des Phenylhydrazons der Brenztraubensäure gewonnen wurden. Auch im Versuch 3 dieser Arbeit (s. S. 12) waren ja in dem Phosphoglycerinsäure-Ansatz auf Phenylhydrazinzusatz vereinzelte Kristalle entstanden, die ihrer Struktur nach als Phenylhydrazon der Brenztraubensäure gedeutet wurden.

Der in den bisherigen Versuchen nicht gelungene Nachweis von Brenztraubensäure als Spaltprodukt der Phosphoglycerinsäure beruhte demnach wahrscheinlich darauf, daß Brenztraubensäure in der Leber, im Gegensatz zu ihrem Verhalten im Muskel, nur in so geringem Umfang als solche liegen bleibt, daß sie als Phenylhydrazon nicht erfaßt wurde. Nach dem Ergebnis der Brenztraubensäure-Zusatzversuche dürfte der in der Bilanz fehlende organische Rest der Phosphoglycerinsäure als Brenztraubensäure, vielleicht auch schon als Phosphobrenztraubensäure, zum Verschwinden gebracht werden, möglicherweise durch Endoxydation zu CO_2 und H_2O. Denn schon Meyerhof, Lohmann und Meier[17]) hatten nach Brenztraubensäurezusatz bei Leberschnitten einen Sauerstoffmehrverbrauch nachgewiesen, den

Khouvine, Aubel und Chevillard[18]) bestätigten. Auch aus den Versuchen von Aubel[19]) sowie Aubel, Khouvine und Arragon[20]), in denen Leberbrei unter aeroben und anaeroben Bedingungen aus zugesetzter Brenztraubensäure Milchsäure und CO_2 bildete, ergab sich, daß Brenztraubensäure außer durch Hydrierung zu Milchsäure auch auf anderem Wege in der Leber verschwinden kann. Ein *oxydativer* Abbau der Brenztraubensäure erfolgt nach Cedrangolo[21]) über Acetaldehyd, während Annau[22]) nach Brenztraubensäurezusatz zur Leber unter bestimmten Bedingungen eine erhöhte Acetonkörperbildung fand und glaubt, daß die Brenztraubensäure über Acetonkörper abgebaut wird.

Für uns handelte es sich darum festzustellen, ob durch Ausschaltung der Zelloxydationen, z. B. durch KCN, die Brenztraubensäurequote nach Phosphoglycerinsäure- oder Brenztraubensäurezusatz in der Bilanz gesteigert werden kann. Nach *Versuch 13* ist das nur in gewissem Umfang der Fall. Die zugesetzte Phosphoglycerinsäure (B_3) war zu 34% gespalten, ähnlich wie in den übrigen Versuchen an Adrenalin-Hungerkaninchen, aber die Milchsäurebildung von 3 mg*) wurde durch den verhältnismäßig starken Brenztraubensäureanstieg von 5,3 mg erheblich übertroffen. Jedoch berechnet auf das abgespaltene Phosphat deckt die Brenztraubensäure 44%, die Milchsäure nur 19% des organischen Restes in der Bilanz, 37% der abgespaltenen H_3PO_4 bleiben trotz der KCN-Vergiftung ohne Äquivalent. Aber auch die zugesetzte Brenztraubensäure (B_4) war nach Einwirkung des KCN-vergifteten Leberbreis etwa auf die Hälfte abgesunken, nur ein Teil ist zu Milchsäure hydriert worden, 38% sind verschwunden. Noch stärker ist das Defizit im Ansatz B_5 bei gleichzeitigem Glycerinphosphorsäurezusatz in voller Bestätigung der Versuche 10, 11 und 12. Da in einem Kontrollansatz zu Versuch 13 nur 80% der unmittelbar nach der Schenckfällung zugesetzten Brenztraubensäure wiedergefunden wurden, sind die Brenztrauben-

*) Anmerkung: Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Milchsäuremenge in Wahrheit vielleicht noch niedriger war, da im Milchsäurewert möglicherweise noch Acetaldehyd enthalten ist, der aus Brenztraubensäure entstand und dessen Weiteroxydation nach Cedrangolo[21]) durch KCN gehemmt wird. Jedoch wird dadurch die Bilanz nicht geändert.

Versuch 13.

(Protokoll Nr. 25. 7. 12. 36.)

Verhalten der Phosphorsäure, Milchsäure und Brenztraubensäure bei Einwirkung von cyankalivergiftetem Leberbrei auf Phosphoglycerinsäure, Brenztraubensäure und Glycerinphosphorsäure.

Adrenalin-Hungerkaninchen.

Jeder Ansatz enthält 4 g Leberbrei in 8 ccm Expositionsflüssigkeit; Vorexposition in KCN 30 Min. bei 20°.

Nach der Vorexposition Zusatz der einzelnen Substanzen, dann Hauptexposition 90 Min. bei 39—40°.

Im ganzen Ansatz sind enthalten in mg	A	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5
		Nach 30 Min. Exposit. in m/1000 KCN-2, 6% Na-bic. bei 20°				
	Zu Versuchsbeginn	Schenckfällung	Zusatz von 8 ccm H_2O	Zusatz von 4 ccm H_2O u. 4 ccm phosphoglycerinsaurem Na, enthaltend 40 mg org. u. 0,2 mg anorg. H_3PO_4	Zusatz von 4 ccm H_2O u. 4 ccm brenztraubensaurem Na, enthaltend 40 mg Brenztraubensäure	Zusatz von 4 ccm brenztraubensaurem Na wie in B_4 u. 4 ccm glycerinphosphorsaurem Na, enthaltend 40 mg anorg. u. 2,8 mg anorg. H_3PO_4
			Exposition 90 Min. bei 39—40°			
Anorg. H_3PO_4	4,3	6,1	13,8	27,5	13,6	24,5
Milchsäure	2,2	2,7	2,8	5,8	6,1	7,1
Brenztraub.-säure	—	—	2,4	7,7	23,9	10,1

säurenwerte vielleicht in Wahrheit etwas höher einzusetzen; aber dies ändert an der Tatsache nichts, daß die Brenztraubensäure offenbar auch auf nicht-oxydativem Wege in der Leber verschwinden kann. Dafür sprechen schließlich auch die sämtlichen übrigen Versuche dieser Arbeit, in denen bei meiner Versuchsanordnung auch ohne KCN-Zusatz praktisch Anaerobiose vorlag. Auf welchem Wege freilich die Brenztraubensäure verschwindet, worauf fernerhin die stets festgestellte beschleunigende Wirkung der Glycerinphosphorsäure beruht, soll an dieser Stelle nicht erörtert werden.

Nach den letzten Versuchen erscheint es fraglich, ob man die Brenztraubensäure auch für die Leber als eine obligate Vorstufe der Milchsäure wie für den Muskel ansehen darf. Denn in allen Brenztraubensäurezusatzversuchen zeigt sich im Vergleich zum Muskel nur eine geringe Milchsäurebildung, die selbst bei Zusatz von Glycerinphosphorsäure, dem im Muskel sehr wirksamen Wasserstoffdonator, kaum erhöht wird. Dabei ist in der Leber eine sehr wirksame Glycerophosphat-Dehydrase sicher nachgewiesen[23]). Wahrscheinlicher ist, daß im Leberbrei aus zugesetzter Phosphoglycerinsäure Brenztraubensäure entsteht, die aber nicht vorwiegend in Milchsäure übergeht, sondern oxydativ weiter abgebaut wird oder auf anderem Wege verschwindet, worauf gerade das Verhalten der Brenztraubensäure im KCN-vergifteten Leberbrei hindeutet.

Danach ist auch die Milchsäure nicht mehr in dem Maße wie bisher als *das* physiologische Intermediärprodukt der Glykolyse im Leberbrei anzusehen, sondern weit eher die Brenztraubensäure. Diese Vorstellung ist auch schon von H. Jost[24]) geäußert worden im Zusammenhang mit Versuchen an atmenden Gänseblutkörperchen und Leberschnitten, bei denen Zusatz von Phosphobrenztraubensäure eine wesentlich größere Oxydationsgeschwindigkeit brachte als Zusatz von Milchsäure und Zusatz von Brenztraubensäure, sodaß nach Jost die Oxydation sogar schon an der phosphorylierten Vorstufe der Milchsäure beginnt. Für den Muskel ist diese Vorstellung auch anwendbar, wenn man sich daran erinnert, daß Laktat nach den Untersuchungen von Embden und Deuticke die Dephosphorylierung der Phosphoglycerinsäure und damit die Glykolyse im Muskel hemmt, ferner, daß ein trainierter Organismus sehr haushälterisch mit der Milchsäurebildung umgeht und gerade dadurch sehr lange Zeit funktionstüchtig bleibt, wie ältere und vor allem neuere, noch nicht veröffentlichte Untersuchungen aus dem hiesigen physiologischen Institut zeigen. Die Milchsäure ist schon des öfteren als *Ermüdungssubstanz* gekennzeichnet, und gerade für die parenchymatösen Organe mit ihrem vorwiegend oxydativen Stoffwechsel möchten wir die Milchsäurebildung nicht zu sehr in den Vordergrund rücken. Wenn im Muskel vorwiegend Milchsäure entsteht, so deswegen, weil in der Kontraktionsphase

anaerobe Bedingungen vorliegen und die Milchsäure zunächst, wenn man so sagen darf, auf ein totes Geleise geschoben wird. Erst in der Erholungsphase unter aeroben Bedingungen, kann der Muskel die Milchsäure wieder in seinen Energiestoffwechsel einbeziehen, sie zur Resynthese von Kohlehydrat und anderen Betriebssubstanzen verwenden. Aus diesem Grunde glauben wir, daß es nicht angängig ist, die Milchsäurebildung als Maßstab der Glykolyse, wenigstens in den parenchymatösen Organen, zu betrachten.

Zusammenfassung.

1. Die im Muskelbrei unter Fluorideinwirkung beobachtete Umwandlung des leicht hydrolysierbaren Hexosediphosphats in die schwer hydrolysierbaren 3-Kohlenstoff-Phosphorsäureverbindungen Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure findet im fluoridvergifteten Leberbrei nicht oder nur in geringem Umfang statt.

2. Dabei vermag aber die nicht mit Fluorid vergiftete Leber zugesetzte Phosphoglycerinsäure in beträchtlichem Maße zu dephosphorylieren unter Bildung von Brenztraubensäure, die jedoch nur in geringer Menge nachweisbar wird.

3. Die normale Leber verfügt über genügende Wasserstoffdonatormengen, um die Brenztraubensäure weitgehend in Milchsäure umzusetzen; die Leber von Adrenalin-Hungertieren vermag dagegen nur sehr wenig Brenztraubensäure zu hydrieren, auch ist sie in ihrer Fähigkeit, Phosphoglycerinsäure zu dephosphorylieren, stark beeinträchtigt.

4. Durch gleichzeitigen Glycerinphosphorsäurezusatz wird im Leberbrei die Milchsäurebildung aus Phosphoglycerinsäure nicht wie im Muskelbrei begünstigt, sondern gehemmt, und auch die Phosphatabspaltung ist behindert.

5. Ein nicht unwesentlicher Teil von Brenztraubensäure verschwindet in der Leber, ohne in Milchsäure überzugehen, teils oxydativ, teils auf vorerst unbekanntem Wege. Glycerinphosphorsäure begünstigt das Verschwinden von Brenztraubensäure ohne Milchsäurebildung.

6. Nach diesen Ergebnissen erscheint es fraglich, ob die Milchsäure beim Kohlehydratabbau in der Leber die zentrale Stellung einnimmt, die ihr bisher zuerkannt wurde.

Literaturverzeichnis.

1) G. Emden, H. J. Deuticke u. G. Kraft: Klin. Wschr. **12**, 213 (1933), Z. physiol. Chem. **230**, 12 (1934); G. Embden u. H. J. Deuticke: daselbst **230**, 29 u. 50 (1934); G. Embden u. Th. Ickes: daselbst **230**, 63 (1934); G. Embden u. H. Jost, daselbst **230**, 69 (1934).
2) O. Meyerhof u. K. Lohmann: Naturw. **22**, 134 u. 222 (1934); Biochem. Z. **273**, 60 (1934); **277**, 89 (1934); O. Meyerhof u. W. Kiessling: Biochem. Z. **264**, 40 (1933); **267**, 313 (1934); **276**, 239 (1935), **283**, 83 (1936); O. Meyerhof: Naturw. **23**, 490 (1935); K. Lohmann: Oppenheimers Hdb. d. Biochem. II. Aufl., Erg.-Bd. **3**, 365 (1935).
3) H. Jost: Z. physiol. Chem. **230**, 96 (1934).
4) E. Thoennissen: Klin. Wschr. **9**, 211 (1930), — u. E. Brinkmann: Z, physiol. Chem. **187**, 137 (1930).
5) G. Embden, K. Baldes u. E. Schmitz: Biochem. Z. **45**, 119 (1912); W. Griesbach: daselbst **50**, 457 (1913); A. Loeb: daselbst **50**, 451 (1913).
6) G. Embden, E. Schmitz u. M. Wittenberg: Z. physiol. Chem. **88**, 210 (1913).
7) G. Embden u. E. Metz: Pflügers Arch. **230**, 526 (1932).
8) G. Embden u. M. Oppenheimer, Biochem. Z. **55**, 335 (1913).
9) Z. Otani: Z. physiol. Chem. **143**, 229 (1925).
10) K. Lohmann: Biochem. Z. **202**, 466 (1928).
11) G. Embden: Z. physiol. Chem. **113**, 138 (1921).
12) E. Lehnartz: Z. physiol. Chem. **179**, 1 (1928).
13) E. M. Case: Biochem. Jl. **26**, 753 (1932).
14) J. S. L. Browne u. R. Grant, Biochem. Z. **264**, 163 (1933).
15) W. W. Simpson u. J. J. R. Macleod: J. of Physiol. **62**, 255 (1927).
16) W. Haarmann: Biochem. Z. **255**, 103 (1932).
17) O. Meyerhof, K. Lohmann u. R. Meier: Biochem. Z. **157**, 459 (1925).
18) Y. E. Khouvine, E. Aubel u. L. Chevillard: C. r. Acad. Sci. Paris **190**, 1234 (1930).
19) E. Aubel: Ann. Soc. roy. Sci. med. et Naturl. Brux. Nr. 5/6 1 (1931).
20) E. Aubel, Y. E. Khouvine u. G. Arragon: Bull. Soc. Chim. biol Paris **15**, 1070 (1933).
21) F. Cedrangolo: Boll. Soc. ital. sper. **9**, 669 (1934).
22) E. Annau, Z. physiol. Chem. **224**, 141 (1934).
23) H. v. Euler, E. Adler u. G. Günther, Z. physiol. Chem. **249**, 1 (1937).
24) H. Jost: Vortrag a. d. 14 Tg. der Deutschen Physiol. Ges. in Gießen 1936, Ber. ü. d. ges Physiol. **96**, 655 (1937).

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Friedrich Wilhelm Zens, am 1. Februar 1912 zu Zülpich. 1918 kam ich auf die Volksschule in Zülpich, die ich bis zu meinem 14. Lebensjahr besuchte, dann kam ich anschließend auf die Deutsche Oberschule in Aufbauform in Euskirchen, wo ich 1932 die Reifeprüfung bestand. Im Sommersemester 1932 begann ich mein Studium in Bonn, machte Ende Wintersemester 1932/33 am staatlichen Beethovengymnasium mein Latinum. 1934 bestand ich in Bonn mein Physikum. Meine klinischen Semester verbrachte ich in Bonn, wo ich mich im Wintersemester 1937/38 der ärztlichen Staatsprüfung unterzog.